云 南 植 物 研 究 2003，25（5）：544～550
Acta Botanica Yunnanica

极度濒危植物五针白皮松的保护遗传学研究*

张志勇[1,2]，李德铢[1**]
（1 中国科学院昆明植物研究所，云南 昆明 650204；2 江西农业大学农学院，江西 南昌 330045）

摘要：用随机扩增多态（RAPD）方法对极度濒危植物五针白皮松（*Pinus squamata* X. W. Li）的遗传多样性和居群遗传结构进行了研究。14 个随机引物共获得 93 条 RAPD 谱带，其中 6 条为多态带，多态位点百分率仅为 6.45%，遗传多样性极低。Shannon 指数 I 和 Nei 指数 h 在种内也只有 0.020 和 0.030，两个亚居群间（半阴坡亚居群与半阳坡亚居群）遗传分化程度不高，遗传分化系数 G_{st} 只有 0.110，与大多数松科植物近似，居群每代迁移数为 4.032。五针白皮松极低的遗传多样性可能是由于它在演化过程中遭受过严重的灾害，造成严重的瓶颈效应，丧失其大部分遗传变异。在随后的演化过程中由于遗传漂变、自交衰退等小种群现象，导致遗传多样性的进一步丧失。另外，阔叶树种对其生存的挤压和人类的干扰也是导致五针白皮松遗传多样性降低的因素之一。本文最后对该结果的保护生物学意义进行了评价。

关键词：五针白皮松；遗传多样性；RAPD；保护
中图分类号：Q 943 **文献标识码**：A **文章编号**：0253－2700(2003)05－0544－07

Conservation Genetics of an Extremely Endangered Pine，*Pinus squamata*

ZHANG Zhi-Yong[1,2]，LI De-Zhu[1**]
（1 *Laboratory of Plant Biodiversity and Biogeography*，*Kunming Institute of Botany*，*Chinese Academy of Sciences*，Kunming 650204，China；2 *Agriculture College*，*Jiangxi Agriculture University*，Nanchang 330045，China）

Abstract：*Pinus squamata* is an extremely endangered pine from NE Yunnan，China，which was found in one wild population with 32 individuals. We analyzed the genetic aspects that could shed light on the conservation of this species. The genetic structure of two subpopulations was examined by using 14 random amplified polymorphic DNA（RAPD）primers. *P. squamata* has an extremely low level of genetic variation with only 6.45% of the loci assayed being polymorphic，i.e. 6 loci out of a total of 93 loci. The Shannon Index（I）and the Nei Index（h）of the species are only 0.020 and 0.030，respectively. Comparing the genetic diversity of the two subpopulations，the subpopulation on the south-west slope was two-fold higher than that on the north-east slope. This may be attributed to the more divergent environment on the south-west slope than on that of the north-east slope. After calculating Nei's G_{st} to estimate the gene differentiation，we found that there was relatively little genetic diversity exist among subpopulations with a $G_{st}=0.110$.

* 基金项目：中国科学院“百人计划”延续支持项目［1998］0054
** 通讯作者 E－mail：dzl@mail.kib.ac.cn
收稿日期：2003－02－16，2003－04－08 接受发表
作者简介：张志勇（1972－）男，博士，讲师，主要从事植物系统学和保护生物学研究。

Because of the lack of fossil records and historical geographical distribution data，it was difficult to interpret the extremely low genetic diversity of the species，but we assumed that *P. squamata* could have suffered from severe bottleneck effect during its evolutionary process. The gene drift and inbreeding may further decrease its genetic diversity in the shrinking populations. The weak competitive ability against broad-leaved trees and human activities may also have accelerated the decrease of genetic variation.

Key words：*Pinus squamata*；Genetic diversity；RAPD；Conservation

五针白皮松（*Pinus squamata* X. W. Li）是一种上世纪 90 年代发现的仅分布于我国云南省巧家县的珍稀树种（李乡旺，1992），目前天然状态下仅剩立木 32 株，在国务院 1999 年 8 月 4 日批准颁布的《国家重点保护野生植物名录（第一批）》中列为国家一级保护植物。五针白皮松的形态特征非常特殊，针叶 5 针一束，每针具 1 条维管束，种子具长翅，既有白松亚属（subgen. *Strobus* Lemmon）的特征，又有松亚属（subgen. *Pinus*）的特征，曾被认为是白皮松组（sect. *Parrya* Myre）狐尾松亚组（subsect. *Balfourianae* Engelm）的成员（李湘萍和朱政德，1993）。Price 等（1998）在对松属的系统发育和系统学评述中，曾推测五针白皮松可能是白皮松组（subsect. *Gerardianae* Loud.）的成员，并认为该种有可能代表一个新的亚组。作者（Zhang 等，2003）通过 5 个 DNA 片段的分子系统学分析表明，五针白皮松与我国的白皮松（*P. bungeana* Zucc.）和西藏白皮松（*P. gerardiana* Wall.）关系较为密切。该文的分析还表明三者处于白松亚属基部，因此五针白皮松很有可能是松属白松亚属的早期分支之一，对于阐明松属的演化具有重要的价值。同时，该树种树皮洁白，枝叶扶疏，树干通直，具有很高的观赏价值和材用价值。

裸子植物尤其是松属植物的遗传变异一直是居群遗传学家关注的对象（Hiebert & Hamrick，1983；Mosseler 等，1992；汪小全等，1996；Ge 等，1998；Delgado 等，1999；李春香等，1999；夏铭等，2001），但只有少量的研究涉及到特有和濒危的种类（Ge 等，1998），尤其是那些濒临灭绝的种类，更是鲜有报道。为了有效保护五针白皮松这一濒临灭绝的珍贵物种，阻止遗传多样性的进一步流失，分析其进化潜力，有必要通过保护遗传学的研究以揭示其遗传变异和遗传结构，然后根据居群遗传学的研究结果确定合理的就地保护和迁地保护策略，制定科学的保护措施。

种下水平的遗传变异研究对于了解濒危物种在未来环境下的适应或进化，以及物种保护具有深刻的意义（Millar & Libby，1991；Schaal 等，1991）。随机扩增多态性 DNA（RAPD）是 20 世纪 90 年代出现的一种分子标记（Williams 等，1990），由于 RAPD 具有多态性高、无需活材料、能实现全基因组无偏取样和无组织特异性等，RAPD 在构建遗传图谱、濒危植物遗传多样性检测中得到广泛应用（邹喻苹等，2001）。本文采用 RAPD 技术分析五针白皮松这一极度濒危植物的遗传多样性和居群遗传结构，探讨其濒危原因和保护措施。

1 五针白皮松分布地区自然概况

五针白皮松分布在我国云南省巧家县新华镇（半阳坡）和中寨乡（半阴坡）境内的同一山体相背的两个坡面上，位于东经 103°00′，北纬 26°54′，海拔 2 000 ~ 2 200 m。生长地气候温和，无严寒酷暑，邓莉兰等（1995）根据巧家县有关气象资料推算，五针白皮松生长

地年降雨量 1 200 ~ 1 300 mm，雨季集中在 5 ~ 10 月；年均气温 15℃，极端高温 38℃，极端低温 – 5℃，大于 10℃的年积温为 3 166.3℃；年日照时数为 1 600 h，大于 10℃的有效光照时数为 809.5 h。土壤主要为发育在玄武岩基质上的黄棕壤和红壤，土层厚度 136 ~ 107 cm，土壤肥力中等，pH 值在 6.0 ~ 6.5 之间。植被类型为云南松 – 华山松 – 五针白皮松 – 滇青冈林（半阳坡）和滇青冈 – 滇石栎 – 五针白皮松林（半阴坡）。半阳坡人为干扰较为严重，半阴坡则相对较轻。五针白皮松居群可分为两个亚居群，半阳坡亚居群（17 个个体）和半阴坡亚居群（15 个个体）。半阳坡亚居群分布较为分散，半阴坡亚居群则相对集中。

2 材料和方法

2.1 植物材料

采集了五针白皮松野外所有 32 个植株中的 31 个的新鲜针叶（因一个植株的树冠太高且在密林中，没有采集到），分别用变色硅胶进行快速干燥。

2.2 实验方法

2.2.1 **总 DNA 的提取** 采用改进的 CTAB 法，用于正式实验的样品均用 RNA 酶 A 进行纯化。纯化后用紫外分光光度计测定 260 nm 和 280 nm 下的光密度值（OD 值），然后根据 Ausubel 等（1995）的方法确定总 DNA 的浓度和质量，PCR 反应用的总 DNA 浓度均稀释为 50 ng/μl。

2.2.2 **PCR 扩增** 扩增反应在 T3 thermocycler（Biometra，Germany）上进行，反应体积为 20 μl，其成分为：2 ng DNA 模板，2.0 mmol/L $MgCl_2$，0.5 μmol/L dNTP，10 × buffer，2.5 μmol/L 引物（Operon 公司引物系列），2U Taq DNA 聚合酶。扩增程序为 94℃ 4 min 预变性，94℃ 15 s，36℃ 45 s，72℃ 90 s，40 次重复，最后 72℃延伸 4 min。

2.2.3 **PCR 产物的鉴定** 用浓度为 2.0% 琼脂糖电泳（TAE 系统），EB 染色，以 Gene RulerTM 100bp DNA Ladder plus（MBI Fermentas 公司）作为相对分子量标准，使用 GelDoc2000（BIORAD 公司）图象分析仪观察并照相。

2.2.4 **数据处理与分析** 统计扩增产物较为稳定的 14 个引物在 31 个样品中的扩增情况，在电泳图谱上同一 RAPD 位点上有电泳带的记为 1，无电泳带的记为 0，作 0，1 矩阵输入 POPGENE 软件进行分析。表征遗传多样性与居群遗传结构的参数包括平均每个位点测定到的等位基因数（*na*，Observed number of alleles），平均每个位点的等位基因的有效数目（*ne*，Effective number of alleles，Kimura and Crow，1964）多态位点百分率（*P*，percentage of polymorphic loci），Shannon 表型多样性指数（*I*） （Lewontin，1972），Nei（1973）的基因多样性指数（*H*），Nei（1973）的遗传分化指数（G_{st}）和居群每代迁移数（N_m，estimate of gene flow from G_{st}，Slatkin and Barton，1989）。

3 实验结果

3.1 RAPD 引物的筛选

随机选取 3 个个体，将它们的总 DNA 混合，对 80 个引物进行筛选，从中选出扩增条带清晰，重复性好的 14 个引物，用这 14 个引物对所有的个体和一个空白对照进行扩增并进行统计分析。

3.2 PCR 扩增结果

14 个引物扩增得到的 DNA 片段共计 93 条，每个引物产生 4 ~ 11 条，长度在 210 ~ 2900bp 之间，其中 6 条为多态带，占 6.45%（表 1），多态性非常低，仅 3 个引物扩增出多态带，其它 11 个引物都没有任何多态，如 OPB – 14（图 1）。

表1　用于五针白皮松遗传多样性检测的寡核苷酸引物的序列及其检测的位点数

Table 1　The sequences of random oligo-nucleotide primers and the number of amplified loci

引物 Primer	引物序列 Sequence	条带数 No. of loci	多态带数 No. of polymorphic loci	多态带比率/% P	引物 Primer	序列 Sequence	条带数 No. of loci	多态带数 No. of polymorphic loci	多态带比率/% P
OPB-13	TTCCCCGCT	8	1	12.5	OPJ-06	TCGTTCCGCA	5	0	0
OPB-14	TCCGCTCTGG	5	0	0	OPJ-14	CACCCGGATG	7	0	0
OPB-19	ACCCCCCAAG	7	0	0	OPJ-17	ACGCCAGTTC	4	0	0
OPC-17	TTCCCCCAG	9	4	44.4	OPS-09	TCCTGGTCCC	11	0	0
OPJ-01	CCCGGCATAA	7	0	0	OPS-18	CTGGCGAACT	10	0	0
OPJ-04	CCGAACACGG	4	0	0	OPS-19	GAGTCAGCAG	7	0	0
OPJ-05	CTCCATGGGG	4	1	25.0	OPV-06	ACGCCCAGGT	7	0	0

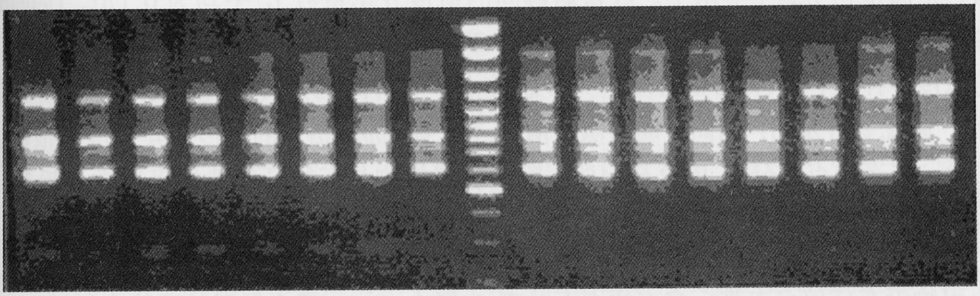


图1　引物 OPB－14 扩增五针白皮松基因组 DNA 的图谱

Fig. 1　The genomic DNA pattern of *P. squamata* amplified with primer OPB－14

M：DNA ladder (100－3000bp)

表2　五针白皮松遗传多样性与居群遗传结构*

Table 2　The genetic diversity and genetic structure of *P. squamata*

parameter	*na*	*ne*	*h*	*I*	*P*/%	H_t	H_s	G_{st}	N_m
半阳坡亚居群 subpopulation on SW slope	1.064	1.045	0.025	0.036	6.45				
半阴坡亚居群 subpopulation on NE slope	1.022	1.017	0.010	0.014	2.15				
五针白皮松居群	1.064	1.032	0.020	0.030	6.45	0.019	0.017	0.110	4.032

*　*na* = Observed number of alleles；*ne* = Effective number of alleles [Kimura and Crow (1964)]；*h* = Nei's (1973) gene diversity；*I* = Shannon's Information index (Lewontin，1972)；*P* = The percentage of polymorphic loci；N_m = estimate of gene flow from G_{st} (Slatkin and Barton，1989)

3.3　遗传多样性与居群遗传结构

3.3.1　遗传多样性　表征五针白皮松居群结构与遗传多样性的一些指标如表2所示，所有表征遗传多样性的指标均表明五针白皮松极低的遗传多样性。在整个五针白皮松居群内，平均每个位点的等位基因的有效数目 *ne*、多态位点百分率 *P*、Shannon 表型多样性指数 *I* 和 Nei 的基因多样性指数 *h* 分别为1.03、6.45%、0.030和0.020。不过半阳坡亚居群的遗传变异水平明显高于半阴坡亚居群，半阳坡的 *P*、*I* 和 *h* 值均大于或等于2倍半阴坡的值。

3.3.2　居群遗传结构　整个五针白皮松的遗传变异量 H_t 为0.019，其中亚居群内遗传变

异量 H_s 为 0.110，表明五针白皮松绝大部分遗传变异存在于两个亚居群内，亚居群间的变异量极少，所以基因分化系数 G_{st} 的值很低，仅为 0.110；两个亚居群间每代迁移数 N_m 为 4.032，说明两个亚居群间存在频繁的基因交流。

4 分析与讨论

松科植物是典型的异花风媒传粉高大乔木，该属中大多数成员都有较高的遗传多样性，而且大部分变异存在于居群之内，居群间差异很小（Hamrick & Godt，1990）。夏铭等（2001）对红松（*Pinus koraiensis*）的遗传多样性的 RAPD 分析表明，其多态位点百分率为 57.7%，种内遗传多样性 Nei 指数 h 为 0.296，种内遗传多样性 Shannon 指数 I 为 0.971，在松科松属植物中属中等水平。红松居群间的遗传分化系数 G_{st} 平均为 0.170。Delgado 等（1999）用同工酶检测白皮松组另一种分布于墨西哥的濒危松树 *P. rzedowskii* 时也得到了很高的遗传多样性，有 46.8% 的位点为多态位点，居群间的遗传分化系数 F_{st}（$= G_{st}$）为 0.247。虞泓等（2000）用同工酶检测云南松（*P. yunnanensis*）的遗传变异，得到很高的遗传变异，多态位点百分率 P 为 69.4%。除了松属植物具有很高的遗传多样性，松科其它属的植物也大多表现出很高的遗传多样性（Szmidt 等，1996，Khasa & Dancik，1996）。但是，我们的结果显示五针白皮松的遗传多样性却非常低，14 个引物只扩增出 6 条多态带，11 个引物没有任何多态带，多态位点百分率 P 仅 6.45%，整个居群的遗传多样性 Shannon 指数 I 为 0.030，Nei 指数 h 为 0.020，远远低于红松和 *P. rzedowskii* 的遗传多样性水平，比中国另外两种著名的活化石植物银杉（*Cathaya argyrophylla*）和水杉（*Metasequoia glyptostroboides*）用 RAPD 分析的遗传变异水平也低得多（汪小全等，1996；李春香等，1999），接近 Mosseler 等（1992）报道的纽芬兰岛多脂松（*P. resinosa*）的遗传多样性，他们用 69 个 RAPD 引物没有检测到任何多态。五针白皮松极低的遗传多样性也为我们目前正在进行的 ISSR（inter-simple sequence repeat）实验所证实。

纽芬兰岛多脂松极低的遗传多样性被归结为全新世冰期造成的瓶颈效应（bottle effect）、高度破碎的居群空间结构以及自交引起的杂合基因的丧失。到目前为止，五针白皮松的古植物资料尚为空白，无法推测其在地质历史时期分布区的变迁。分子系统学的结果表明五针白皮松是松属白松组的基部类群（Zhang 等，2003），说明它是一个较为古老的类群，它现在的生存状况，极有可能是在地质历史时期遭受了毁灭性灾害（如冰川），使其居群数量急剧下降，丧失大部分遗传多样性，造成严重的瓶颈效应，只留下少量的居群和个体。在随后的历史进程中，由于小种群中存在严重的遗传漂变、近交衰退以及环境变化与灾害引起的随机性变化，使其陷入灭绝旋涡（extinction vortices）。另外通过五针白皮松在群落演替过程中的种间联结性分析，阔叶树种在植被演化过程中的挤压也可能是一个重要的致濒因素（张志勇等，2003）。当然，人类的破坏也是一个重要的因素，我们在野外调查中发现五针白皮松群落内有 10 几株大树砍伐后留下的树桩，充分说明了人类在五针白皮松的濒危过程中所起的消极作用。

从五针白皮松两个亚居群的遗传多样性来看，半阳坡亚居群明显大于半阴坡亚居群，野外调查表明，半阳坡亚居群的个体空间距离较远，各个个体所处的小生境差异较大，而

半阴坡亚居群的绝大部分个体都在同一个沟谷内，生境极为一致，由此不难理解两个亚居群之间遗传多样性的差异，因为生物的遗传变异水平往往会随着生境的复杂化而有相应的提高（汪小全等，1996）。因此在采集种子进行迁地保护时要多考虑半阳坡亚居群，以最大限度的保存其遗传多样性。

虽然两个亚居群在遗传多样性水平相差较大，但两者之间的基因分化并不高（G_{st} = 0.110），与大多数松科植物类似（G_{st} 小于 0.15；Ledig，1998），且两个亚居群遗传变异的差异主要来自于不同的等位基因频率而不是等位基因的构成，说明两个亚居群间虽然相隔一个山脊，但松树花粉能远距离传播，两者之间还是存在频繁的基因交流。然而，为了保证两个亚居群间的基因交流，尽量减少遗传漂变和自交的作用，建议就地保护时在两个亚居群之间种植来自不同亚居群的个体。

5　保护生物学意义

五针白皮松极低的遗传多样性可能是由于其在进化历史中遭受了灾难性的地质事件，人为破坏仅仅对它的濒危起加速作用。通过五针白皮松在群落演替过程中的种间联结性分析，阔叶树种在植被演化过程中的挤压也可能是一个重要的致濒因素（张志勇等，2003）。小种群的遗传漂变、自交衰退在五针白皮松濒危过程中也起了重要作用。两个亚居群遗传变异的差异主要体现在等位基因的频率而不是等位基因的构成上。这种遗传变异形式对五针白皮松的保护具有重要的指导意义。首先，少量个体的死亡不会影响整个物种的遗传变异水平，但个体数的进一步减少无疑将加强遗传漂变和近交的影响，导致遗传变异的进一步下降，同时增加了随机灾难性事故导致种群灭绝的概率。最小生存种群数量（MVP，minimum viable population）的研究（Franklin，1980）认为，短期存活的种群其有效种群大小不得低于 50 个个体，五针白皮松现在的天然种群大小（32 个个体）已下降到这个数目之下，因此它在短期内的灭绝概率非常高。五针白皮松的种子产量虽然不高，但饱满种子的萌发率非常高（未发表资料），只要管理得当，成苗率也非常高，因此应当大力进行人工育苗并移栽至五针白皮松原生境，尽快使其种群大小恢复到一定的数量，降低灭绝概率和遗传漂变和近交对种群遗传结构产生的不利影响，同时促进基因重组并使由突变产生的变异在较大的种群中得以保存，增加五针白皮松的遗传多样性。

致谢　本文野外工作得到云南省巧家县林业局的大力支持，成文过程中得到华南植物研究所张林斌同学的帮助。

〔参　考　文　献〕

邹喻苹，葛颂，王晓东，2001. 系统与进化植物学中的分子标记［M］. 北京：科学出版社

Ausubel FM，Brent R，Kingston RE，*et al*，eds. 1995. Short Protocols in Molecular Biology. 3th ed［M］. Indianapolis：John Wiley & Sons，Inc

Delgado P，Piňero D，Chaos A，*et al*，1999. High population differentiation and genetic variation in the endangered Mexican pine *Pinus rzedowskii*（Pinaceae）［J］. *Amer J Bot*，**86**（5）：669—676

Deng LL（邓莉兰），Lu SJ（陆素娟），Fan GS（樊国盛），*et al*，1995. Some community characteristics of *Pinus squamata*［J］. *J Trop & Subtrop Bot*（热带亚热带植物学报），**3**（4）：76—78

Franklin IR，1980. Evolutionary change in small populations [A]. In ME Soulé and BA Wilcox (eds.)，Conservation biology：An Evolutionary-ecological Perspective [M]. Sunderland，MA：Sinauer Associates，135—149

Ge S，Hong DY，Wang HQ，*et al*，1998. Population genetic structure and conservation of an endangered conifer，*Cathaya argyrophylla* (Pinaceae) [J]. *Int J Plant Sci*，**159** (2)：351—357

Hamrick JL，Godt MJW，1990. Allozyme diversity in plant species [A]. In：Brown AHD，Clegg MT，Kahler AL *et al* ed，Plant Population Genetics，Breeding and Genetic Resources [M]. Sunderland，MA：Sinauer Associates，43—63

Hiebert RD，Harmrick JL，1983. Patterns and levels of genetic variation in Great Basin bristlecone pine *Pinus longaeva* [J]. *Evolution*，**37**：302—310

Khasa PD，Dancik BP，1996. Rapid identification of white-Engelmann species by RAPD markers [J]. *Theor Appl genet*，**92**：46—52

Kimura M，Crow JF，1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population [J]. *Genetics*，**49**：725—738

Ledig FT，1998. Genetic variation in *Pinus* [A]. In DM Richardson (ed.)，Ecology and Biogeography of *Pinus* [M]. Cambridge：Cambridge University Press，251—280

Lewontin RC，1972. Apportionment of human diversity [J]. *Evol Biol*，**6**：381—398

Li CX（李春香），Yang Q（杨群），Zhou JP（周建平），*et al*，1999. RAPD analysis of genetic diversity in the natural population of *Metasequoia glyptostrocoides*，central China [J]. *Acta Sci Nat Univ Sunyatseni*（中山大学学报·自然科学版），**38** (1)：59—63

Li XP（李湘萍），Zhu ZD（朱政德），1993. Studies on constituents of fatty acids from seed oils of *Pinus bungeana* and its taxonomic position [J]. *J Nanjing For Univ*（南京林业大学学报），**17**：27—34

Li XW（李乡旺），1992. A new series and a new species of *Pinus* from Yunnan [J]. *Acta Bot Yunnan*（云南植物研究），**14** (3)：258—260

Millar CI，Libby WJ，1991. Strategies for conserving clinal，ecotypic and disjunct population diversity in widespread species [A]. In DA Falk，KE Holsinger eds，Genetics and Conservation of Rare Plants [M]. New York：Oxford University Press，149—170

Mosseler A，Egger KN，Hughes GA，1992，Low levels of genetic diversity in red pine confirmed by random amplified polymorphic DNA markers [J]. *Can J For Res*，**22**：1332—1337

Nei M，1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*，**10**：3321—3323

Price RA，Liston A，Strauss SH，1998. Phylogeny and systematics of *Pinus* [A]. In D. M. Richardson ed，Ecology and Biogeography of *Pinus* [M]. Cambridge：Cambridge Univ. Press，49—68

Schaal BA，Leverich WJ，Rogstad SH，1991. Comparison of methods for assessing genetic variation in plant conservation biology [A]. In DA Falk，KE Holsinger eds，Genetics and conservation of rare plants. New York：Oxford University Press，123—134

Slatkin M，Borton NH，1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow [J]. *Evolution*，**85**：733—752

Szmidt AE，Wang XR，Lu MZ，1996. Empirical assessment of allozyme and RAPD variation in *Pinus sylvestris* L. using haploid tissue analysis [J]. *Heredity*，**76**：412—420

Wang XQ（汪小全），Zhou YP（邹喻苹），Zhang DM（张大明），*et al*，1996. Genetic diversity analysis by RAPD in *Cathaya argyrophylla* Chun et Kuang [J]. *Sci China* (Ser. C)（中国科学·C 辑），**26**：436—441

Williams JGK，Kubelik AR，Livak KJ，*et al*，1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers [J]. *Nucl Acids Res*，**18**：6531—6535

Xia M（夏铭），Zhou XF（周晓峰），Zhao SD（赵士洞），2001. Rapd analysis on genetic diversity of natural populations of *Pinus koraiensis* [J]. *Acta Ecol Sin*（生态学报），**21**：730—737

Yu H（虞泓），Ge S（葛颂），Huang RF（黄瑞复），*et al*，2000. A preliminary study on genetic variation and relationships of *Pinus yunnanensis* and its closedly related species [J]. *Acta Bot Sin*（植物学报），**42** (1)：107—110

Zhang ZY（张志勇），Li DZ（李德铢），2003. An analysis of interspecific associations of *Pinus squamata* with other dominant woody species in community succession [J]. *Biodivers Sci*（生物多样性），**11**：125—131

Zhang ZY，Yang JB，Li DZ，2003. Phylogenetic relationship of the extremely endangered species，*Pinus squamata* (Pinaceae) inferred from four sequences of the chloroplast genome and ITS of the nuclear genome [J]. *Acta Bot Sin*（植物学报），**45**：530—535